

## 血流途絶時間と骨癒合の関係について

金沢大学医学部整形外科科学講座 (主任: 野村 進教授)

国 下 正 英

(昭和63年11月11日受付)

家兎の大腿中央部において大腿骨、大腿動静脈及び坐骨神経を残し他組織を完全に切離し大腿動静脈をクリッピングする事により、0時間、6時間、12時間の3段階の血流途絶状態を作製した後、腓骨々折をおこさせ、又コントロールとして非切離群(骨折のみ)を作製し、血流途絶時間と骨癒合の関係を比較検討した。骨癒合に関してはX線学的に、組織学的に、血流量に関してはインピーダンスプレチスモグラフィーを用いて、骨膜細胞の活性に関しては  $H^3$ -thymidine によるオートラディオグラフィーにて検討した。0時間血流途絶群の血流量は1週間目より6週間、健側の約80%を維持していた。腓骨の骨癒合経過はX線学的、組織学的にコントロール群と差異は認めなかった。一方、6時間血流途絶群では、血流再開後の血流量は1週間目より6週間、ほぼ一定して健側の60%台を示した。12時間血流途絶群でもほぼ同様の血流量の推移を示した。6時間および12時間血流途絶群では共に腓骨の骨癒合は得られるものの、全経過を通し、0時間血流途絶群に比較して約1~2週間の遷延をみたが、両者の間には有意差はなかった。オートラディオグラフィーによる実験では極初期の腓骨の骨膜にある細胞の  $H^3$ -thymidine の取り込みは、0時間途絶群と6時間、12時間途絶群の間には有意な差があり、後者では明らかに labeled cell rate (LCR) が低かった。以上の結果より、血流途絶時間が6時間を越えると骨癒合は得られるが、骨折修復過程の遷延をもたらす。その要因として初期の仮骨に関与する細胞の viability の低下を示唆する所見もあったが、仮骨形成の盛んな時間に骨折治癒機転を停止させない程度の血流量の低下が最も考えられた。

---

**Key words** fracture healing, blood flow, duration of ischemia

---

最近の微小血管外科の発達 はめざましく目を見張るものがあり、多くの切断肢(指)に再接着術が行われている。しかし本手術は熟練した技術及び特殊手術器械を要するためいかなる施設においても本手術を受けられるわけではない。近くに再接着術を受ける施設の無い場合には、その患者は遠方へ搬送されねばならず血流途絶状態が長く続くことになり、その結果手術により血流の再開がなされても骨癒合、筋肉の阻血性拘縮等が問題になる。循環障害が骨癒合に影響する事は古くから知られている。骨癒合に関与する循環障害としては血流量の低下と血流途絶時間が考えられる。血流量の低下と骨癒合に関しては、これまでに Trueta<sup>1)</sup>,

Cavadias<sup>2)</sup>, Dax<sup>3)</sup>, Lexer<sup>4)</sup>らはそれぞれ動物実験にて栄養動脈を遮断することにより阻血状態を作製し、マイクロアンギオグラフィーを使用し微小血管の変化を形態学的に観察することにより骨癒合との関係を検討している。また松本<sup>5)</sup>は家兎を用いて血流量の低下を量的にとらえ、仮骨形成がさかんな骨折後2~5週の時期に血流量が正常の50%以下に低下した場合骨癒合がおこらないと報告している。一方血流途絶時間と骨癒合の関係に関しては、臨床的に島ら<sup>6)</sup>は再接着指例で、米澤ら<sup>7)</sup>は前腕骨幹部切断の再接着例において、血行再開までの時間と骨癒合について相関があり、ある一定時間血流が途絶されると骨癒合が遷延すると述

---

Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; EDTA, ethylenediamine tetraacetic acid; HE, hematoxylin eosin; LCR, labeled cell rate.

べているにすぎない。このように血流途絶時間と骨癒合は密接な関係にあると思われるが、その関係を実験的に証明した報告はなく明らかにされていない。著者は、血流途絶時間による血流変化の程度と骨癒合の関係を解明すべく、家兎を用い、その大腿骨、大腿動静脈及び坐骨神経のみを残し骨膜も含めて他組織を完全に切離し、大腿動静脈をクリッピングする事により血流途絶状態を作製し、クリッピング時間と腓骨々折の骨癒合の関係をX線学的、組織学的更にはオートラジオグラフィーにて検討した。又同時にインピーダンスプレシスモグラフィーを用い経時的に下腿の血流を測定し検討した。

### 材料および方法

#### I. 骨折の作製

実験材料として体重 3.5kg 前後の雄の家兎を使用し、ペントバルビタル (pentobarbital) 32.4mg/kg で静脈麻酔し、動物手術台に背臥位で四肢を伸展位にした位置で固定後、無菌的に下腿外側中央部に約 1 cm の皮膚切開を加え筋層を分けた後、直視下で鋼線切りにて腓骨々幹部中央部を骨膜とともに完全横骨折させた。家兎の腓骨遠位端は脛骨と癒合しており脛骨

が副子の働きをし、骨折後も転位は起こらないものと考え外固定は行わなかった。

#### II. 血流途絶状態の作製

家兎の右大腿中央部において大腿骨、大腿動静脈及び坐骨神経を残し、電気凝固にて順次止血を行いながら、骨膜も含めて他組織を完全に切離し、ついで大腿動静脈をクリッピングする事により血流途絶状態を作製した。(図1)。

クリップ除去までの時間を血流途絶時間とし、右腓骨を骨折させた家兎にそれぞれ 0 時間、6 時間、12 時間血流途絶時間群の 3 段階の血流途絶状態を作製した。またコントロールとして非切離群 (骨折のみ) を作製し、下記の A、B、C、D の 4 群に分けて検討した。

- A 群: 0 時間血流途絶時間群 (切離のみでクリッピングしなかった群)
- B 群: 6 時間血流途絶時間群
- C 群: 12 時間血流途絶時間群
- D 群: 非切離群 (骨折のみ)

クリップ除去後つまり血流再開後切離した筋層、皮膚はそれぞれ無菌的に縫合して手術を終えた。

尚手術中にウロキナーゼ  $2.000 \mu/\text{kg}$ 、ヘパリン  $1.000 \mu/\text{kg}$  を持続点滴にて全身投与した。また感染予防としてケフリン  $0.15\text{g}/\text{kg}$  を全身投与した。

#### III. 血流測定

##### 1. 血流測定法

血流測定に関しては、松本<sup>9)</sup>の測定法に従ってインピーダンスプレシスモグラフィー AI-600G,

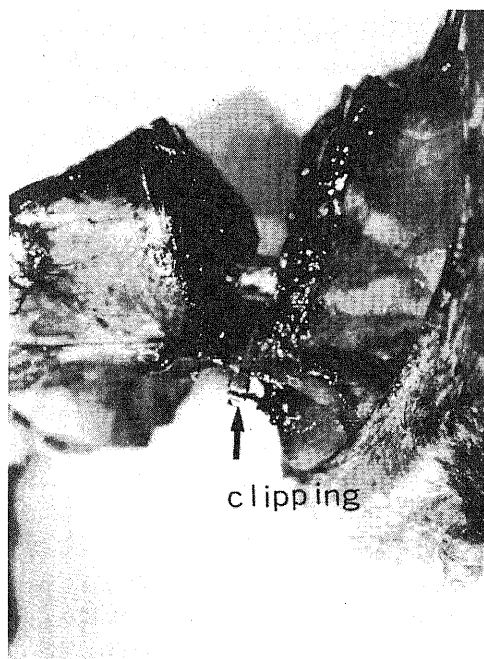


Fig.1. Clipping of the femoral artery and vein (arrow) at the middle of the right upper leg of a rabbit.

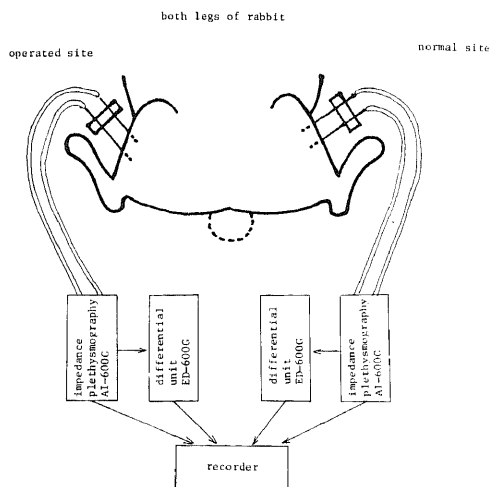


Fig.2. Measuring method of blood flow. (lower legs of rabbit).

ED-600G<sup>9-10)</sup> (日本光電, 東京), 記録装置 WT-645G (日本光電, 東京), を用い測定した。

ただし, 本装置は人の心拍出量及び四肢の血流測定用に作製されたものであるため, 人の手指及び家兎の四肢位の微小血流が測定出来る様に改良した。

電極は直径 0.6mm の Kirschner 鋼線 2 本を用い, それを家兎下腿外側筋層内に約 1 cm 刺入して 2 電極とし, 電極間距離は 4 cm とした (図 2)。

血流測定は, 前記手術を施した A. B. C. D 群の家兎 (各 10 羽) の右側は患側, 左側はコントロールとして両下腿筋層内同一部位を同時に, 手術直後より毎週, 6 週まで経時的に測定した。なお, これら測定中全経過を通して, 2 電極間のインピーダンスは 450~550  $\Omega$  を示し, 電極刺入部位が一定であることを示した。

## 2. 血流計算法

上記測定により, 脈波 ( $\Delta Z$  波) 及び脈波の微分波 ( $dz/dt$  波) の記録波形が得られる (図 3)。

これより,  $\Delta Z$ ,  $dz/dt$  の値は,  $\Delta Z = 0.1 \times A/10$ ,  $dz/dt \text{ min} = 1.0 \times B/10$  ( $\Omega/\text{sec}$ )

また,  $T$  (駆出時間) は,  $T = C/50$  (sec)

{ただし,  $A$  はインピーダンスの変化分,  $B$  は  $\Delta Z$  の微分波の  $dz/dt$  の最大値,  $C$  は  $dz/dt$  波形の立上がり勾配の 15% の点と  $dz/dt$  波形の上向きスパイクの間隔}

1 回の駆出量  $\Delta V$  は,

$Z_0$  : 電圧電極間全インピーダンス ( $\Omega$ )

$dz/dt \text{ min}$  :  $\Delta Z$  の 1 次微分値 ( $\Omega/\text{sec}$ )

$T$  : 駆出時間 (sec)

$L$  : 電圧電極間距離 (cm)

$\rho$  : 血液比抵抗 ( $\Omega \cdot \text{cm}$ )

とすると, Kubicek ら<sup>10)</sup> の研究により,  $\Delta V = \rho$

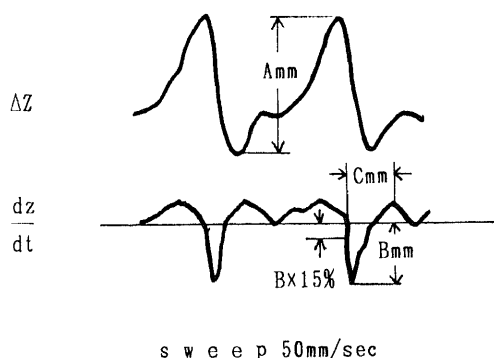


Fig. 3. Model of simultaneous recording of  $\Delta Z$  and  $dz/dt$ .

$(L/Z_0)^2 \cdot dz/dt \text{ min} \cdot T$  で計算出来る。

ただし, ここで求められる値は, 電極に Kirschner 鋼線を使用した 2 電極を用いているため, 必ずしも絶対値を示すものではなく相対値であり, 又, 測定時の麻酔の深さ, 室温の変化など血流に影響を及ぼす因子を除外する目的で, 患側で求められた値の健側で求められた値に対する血流比をもって患側の血流状態の指標とした。

## IV. 骨癒合の検討

### 1. X線学的検討

A. B. C. D. 群の各群について, 8 羽づつ術後 1 週目より 8 週目まで, 毎週エーテル (ether) 吸入麻酔後, ソフテックス-CMB 型装置及び高感度ソフテックスフィルムを用い X 線撮影を行い検討した。

X 線学的な骨癒合の判定を渡辺ら<sup>10)</sup> は, 骨折線の不鮮明化, その消失, 骨梁の交通, 更には骨の remodeling の完成をもって行っているが, 家兎の腓骨では骨梁は X 線にははっきりと読影することが困難であり, 本実験では, 骨皮質の連続性がはっきりし, 骨折線がほぼ消失した時点を骨癒合完成とした。

### 2. 組織学的検討

A. B. C. D. 群の各群について, クリップ除去の手術後 1 週目より, 2 週, 3 週, 4 週, 5 週, 6 週, 7 週の各週, 8 羽づつ骨折させた腓骨を僅かに筋層を付けた状態で採取し, 10%ホルマリンにて固定後, Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) にて脱灰し, パラフィン包埋した。6  $\mu$  の縦断連続切片標本を作製後, ヘマトキシリン・エオジン重染色 (HE) を行い病理組織学的に検討を行った。又同時に 4, 5, 6 週目において各群 5 羽づつ前脛骨筋の一部を採取し, 4  $\mu$  の切片標本を作製後, HE 染色を用いて病理組織学的に検討を行った。

## V. オートラジオグラフィーによる検討

前記 A. B. C. 群に加えて更に 2 時間, 4 時間の血流途絶群を追加し, 各群 2 羽づつ血流再開後,  $H^3$ -Thymidine を, 0.33mCi/kg 静注し, 1 時間後に屠殺した後, 腓骨々幹部を僅かに筋層を付けた状態で約 2 cm 採取し, 10%ホルマリンにて固定後, EDTA にて脱灰しパラフィン包埋した後, 厚さ 6  $\mu$  のパラフィン標本を作製した。これらの標本を“さくらオートラジオグラフィー用感光乳剤 NR-M2”で浸漬し, 室温乾燥後, シリカゲル封管密閉箱に収めて 4°C にて暗所で 30 日間露出した。これらの標本を現像したのち, HE 染色を施行し検鏡した。そして  $H^3$ -Thymidine 投与 1 時間後の腓骨々幹部の骨膜細胞に取り込まれた labeled cell を測定し, その labeled cell rate

(LCR) を求め検討した。LCR の求め方は、骨膜にある細胞を無作為に10,000個計算しその中に存在する labelled cell を%として表した。

なお、本実験で使用した  $H^3$ -Thymidine は日本放射性同位元素協会より入手したもので、Specific activity は  $5.0\text{Ci/mM}$  である。

#### VI. 統計学的検討法

各血流途絶時間群の骨癒合期間については、Group A を基準として group B, C, D 各群との平均値の差

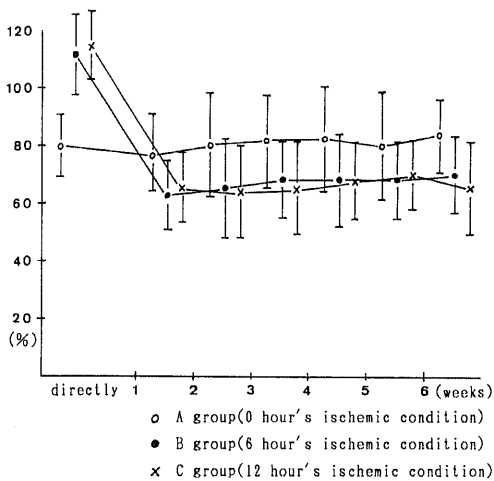


Fig. 4. Ratio of blood flow. (operated legs vs normal legs).

を分散分析後、Dunnett の多重比較法により検定した。  $p < 0.05$  を有意とした。

#### 成 績

##### I. 肉眼的所見

C 群では血流途絶開始後つまり大腿動静脈クリッピング後数分で切断末梢のチアノーゼが出現し徐々にチアノーゼは増強し1時間前後で最大に達した。その後5~6時間目頃より下肢は硬くなり、血流途絶後12時間目においては、筋肉は正常のトーンスを失い硬直状態となった。血流再開後つまりクリップ除去後より大腿動脈はただちに拍動を認め、数分で下肢の色調は良好となり血流再開が確認されたが、数例大腿動脈の拍動が悪く、血管の manipulation が必要な例もあった。血流再開後より末梢の著明な腫脹を認め、1週前後で最大となり2週目頃より腫脹は漸次消退してゆくが逆にこの頃より下肢の萎縮が認められるようになってくる。6週目の時点では筋肉は正常のトーンスを失っていたが、全例壊死は認められなかった。

B 群でもクリッピング後数分で切断末梢のチアノーゼが出現し徐々にチアノーゼは増強し1時間前後で最大に達し、その後5~6時間目で下肢は硬くなり、筋肉のトーンスも低下した。血流再開後つまりクリップ除去後より大腿動脈はただちに拍動を認め、数分で下肢の色調は良好となった。血流再開後は末梢の著明な腫脹を認め、1週前後で最大となり2週目頃より腫脹

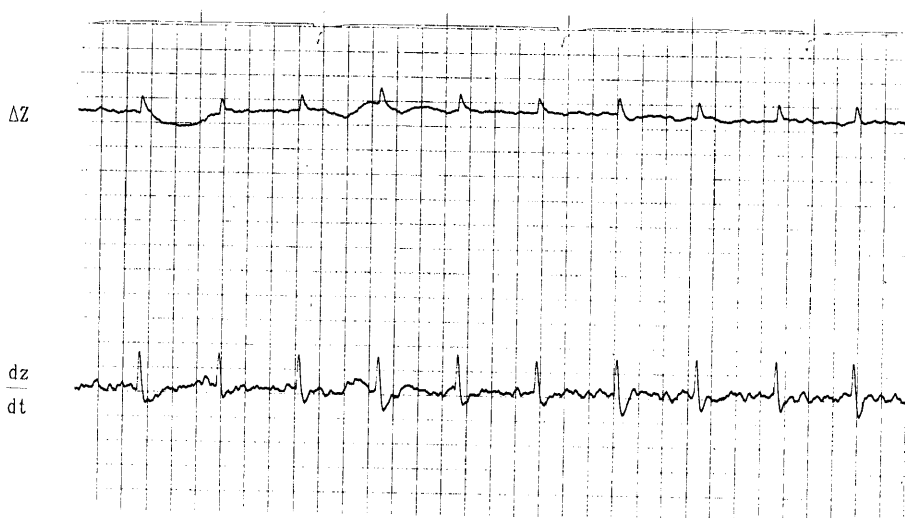


Fig. 5. Recordings of  $\Delta Z$  and  $dz/dt$  obtained during the clipping of the femoral artery and vein of group B. Normal figure as shown in Fig. 4 can not be obtained. (The ratio of blood flow is 0%.)

は漸次消退してゆくが逆にこの頃より下肢の萎縮が認められるようになってくる。全例壊死は認められず、6週目の時点ではC群と同様にやはり筋肉は正常のトーンスを失っていた。

A群においては術後数日目より軽度の腫脹は認めるものの、B、C群に比較するとその程度は軽く、腫脹の減退する2週目頃より筋肉のトーンスはほぼ正常であった。またB、C群ともに患肢は弛緩性麻痺を呈し、著明な引きずり歩行を示したが、A群では程度は軽かった。なおC群では術後感染をおこした例もあったがそれらは成績評価から除外した。

## II. 血流測定の結果

患側血流値の健側血流値に対する比をもって、患側の血流状態を示した。

A、B、C群各10羽づつの血流比を平均値で表し、それを経時的に見ると、A群においては切離直後より  $79.4 \pm 11.8\%$  を示し1週後  $76.5 \pm 13.8\%$ 、2週後  $80.1 \pm 18.5\%$ 、3週後  $82.4 \pm 13.4\%$ 、4週後  $83.4 \pm 16.4\%$ 、5週後  $79.4 \pm 18.7\%$ 、6週後  $83.3 \pm 13.4\%$  となり観察中は80%前後の血流比を維持していた(図4)。

B群においてはクリッピング直後より  $\Delta Z$  及び  $da/$

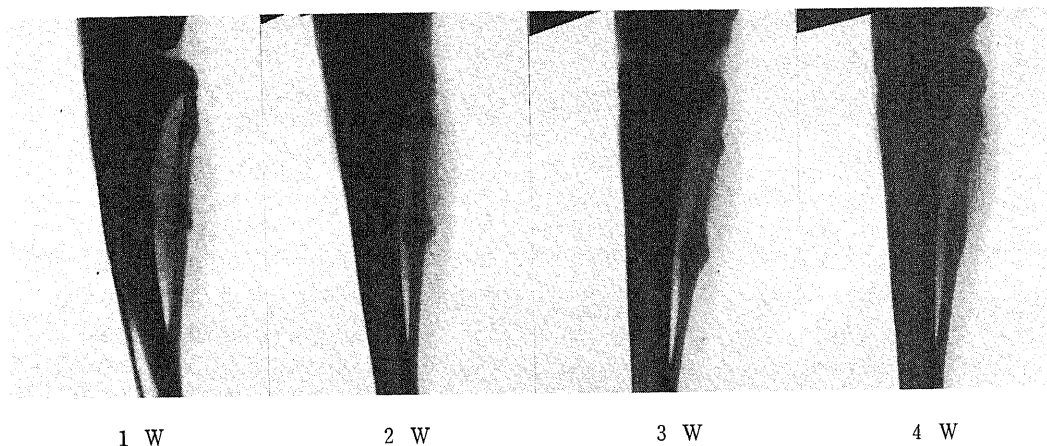


Fig. 6. Radiographical findings of Group D. In this group, fractures are united and much external callus is produced. The fracture healing is complete at the fourth week.

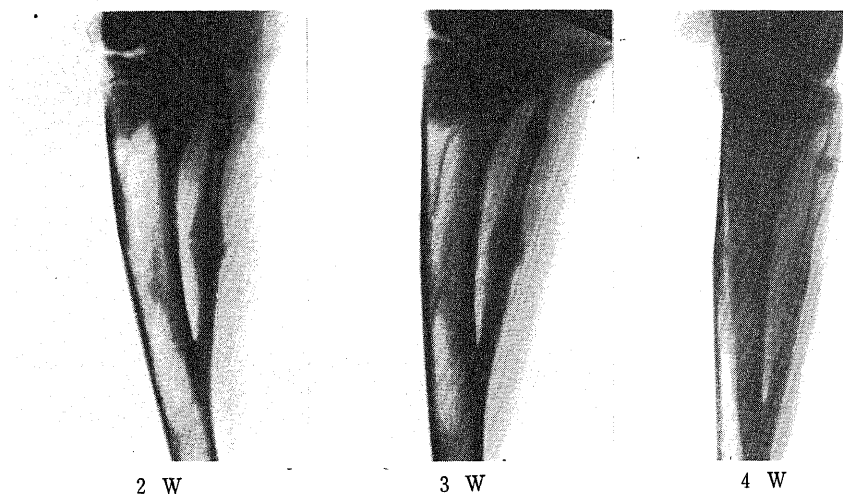


Fig. 7. Radiographical finding of Group A (zero hour's ischemic condition). In this group, much external callus is produced same as Group D and the fracture healing is complete at the fourth week.

dt の波形は不規則で数値が読み取れず血流がほとんど0近くまで低下した事を示しクリッピング除去まで続いた (図5). クリッピング除去直後には,  $111.4 \pm 15.2\%$  となりその後約30分後頃より  $61.3 \pm 19.4\%$  と低下を示し, 1週後  $62.4 \pm 14.2\%$ , 2週後  $65.1 \pm 16.4\%$ , 3週後  $68.3 \pm 13.8\%$ , 4週後  $68.3 \pm 16.5\%$ , 5週後  $67.4 \pm 15.1\%$ , 6週後  $70.3 \pm 13.4\%$  となり, 60%台の血流比を維持した.

C群においてもクリッピング除去直後には,  $115.3 \pm 11.2\%$  となりその後約30分後頃より  $64.5 \pm 20.1\%$  と低下し, 1週後  $64.2 \pm 13.3\%$ , 2週後  $63.4 \pm 16.9\%$ , 3週後  $64.4 \pm 17.3\%$ , 4週後  $67.2 \pm 14.4\%$ , 5週後  $69.2 \pm 13.4\%$ , 6週後  $65.2 \pm 16.4\%$  となりB群

とほぼ同様の経過を示した.

以上よりA群においては切離直後より6週間約80%の血流比を示した. B, C群では反動のためか血流再開直後には, 一過性に患側の血流比は100%以上を示す例もあるが約30分後より徐々に血流比の低下を見た. その後6週間両群とも60%台の血流を持続していた. A, B, C群共に3~4週目に極く軽度の血流改善を認められるも観察した6週間では有意な血流増加はなかった.

### III. 骨癒合の結果

#### 1. X線学的所見

D群すなわち骨折のみの群においては, X線学的に1週ですでに薄くてわずかであるが骨皮質にそって外

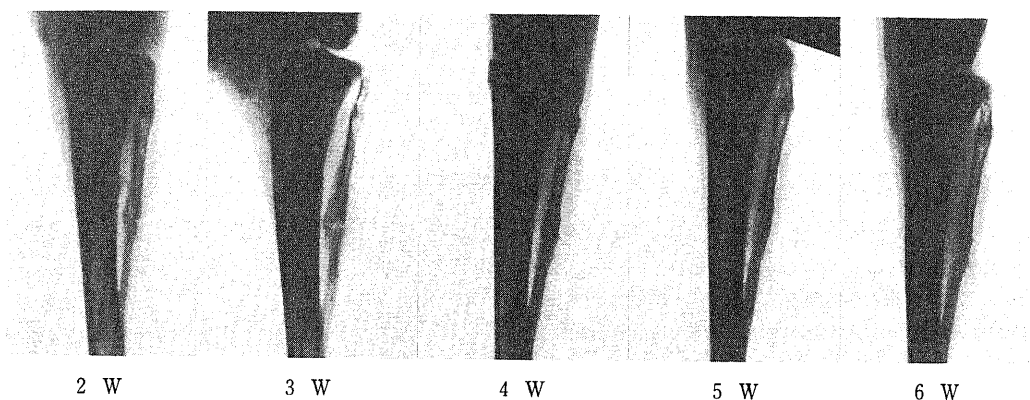


Fig. 8. Radiographical finding of Group B (six hour's ischemic condition). In this group, fracture healing is complete at the sixth week and the formation of external callus is quantitatively less than Group D and Group A.

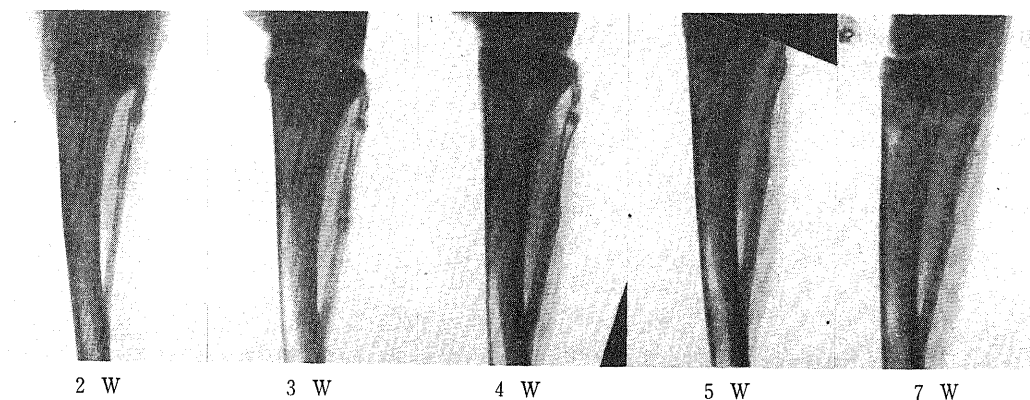


Fig. 9. Radiographical finding of Group C (twelve hour's ischemic condition). In this group C (twelve hour's ischemic condition). In this group, fracture healing is complete at the sixth week and the formation of external callus is quantitatively less than Group A and D but is similar to Group B.

仮骨がみられる。しかし骨折部でのこれら外仮骨による連絡は認められず、2週目頃に骨折部での外仮骨の一部連絡が認められる様になり、その後、徐々に外仮骨による骨癒合が進行し、3～4週で外仮骨による連絡が完全になり、骨折線も不明瞭となった。4～5週で骨折線は完全に消失した。この時点でX線学的に、外・中間仮骨による骨癒合が完成した(図6)。

A群すなわち切離のみの0時間血流途絶時間群では、A群と比較してほとんど差を認めなかった(図7)。

B群すなわち6時間血流途絶時間においては、1週目では外仮骨はほとんど認められず2週目において外仮骨の出現を認めるが、A・D群と比較すると仮骨量も乏しく、なかには外仮骨のはっきりしない症例もあった。3～4週目においてようやく外仮骨の連絡がみられるようになるが、やはりA・D群のそれと比較すると乏しかった。5～7週目でX線的に外・中間仮骨による骨癒合が完成した。骨癒合完成までの全経過中A・D群と比較して仮骨の量は非常に少なかった(図8)。

C群すなわち12時間血流途絶時間においては、B群と比較すると同じような経過をたどりほとんど差を認めなかった(図9)。

以上よりX線学的に各群の骨折線の不明瞭化及び骨折線の消失時期を平均値でみると、骨折線の不明瞭化はA群では $4.3 \pm 1.2$ 週、B群 $5.6 \pm 1.0$ 週、C群 $5.8 \pm 1.2$ 週、D群では $4.3 \pm 1.1$ 週であり、骨折線の消失はA群 $5.4 \pm 1.1$ 週、B群 $6.7 \pm 1.1$ 週、C群 $6.9 \pm 1.0$ 週、D群では $5.3 \pm 1.0$ 週であった。A群とD群には統計学的に有意の差はなく、A群とC群では明らかに有意差( $p < 0.05$ )を認めた。A群とB群の間では平均値に差が認められたが、統計学的には有意ではなかった(表1)。

## 2. 組織学的所見

各群において、骨折後1週目より標本を作製して検討した。

仮骨の命名法については、Weinman ら<sup>15)</sup>の方法を用いた。つまり錨着仮骨 (anchoring callus)、橋状仮骨 (bridging callus)、結合仮骨 (uniting callus)、閉鎖仮骨 (sealing callus) の名を主として用い、便宜上骨折部周辺の前記仮骨の出来る場所の名称を、錨着部、橋状部、結合部、閉鎖部として表現した(図10)。

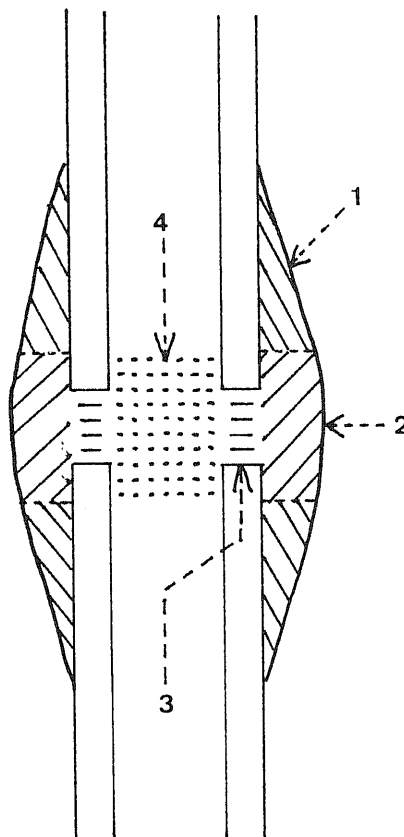


Fig. 10. Diagram of the callus in a simple fracture of a long bone. (from Weinmann and Siche)<sup>15)</sup>. (1) Anchoring callus, (2) Bridging callus, (3) Uniting callus, (4) Sealing callus.

Table 1. Radiographycal results of fracture healing.

Fracture line	group A	group B	group C	group D
not clear	$4.3 \pm 1.2^{*)}$	$5.6 \pm 1.0$	$5.8 \pm 1.2^*$	$4.3 \pm 1.1$
disappeared	$5.4 \pm 1.1$	$6.7 \pm 1.1$	$6.9 \pm 1.0^*$	$5.3 \pm 1.0$

mean  $\pm$  SD (n=8)

a) Duration necessary for the healing of fracture (weeks).

\*  $p < 0.05$  vs. group A by ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison.

1) D群 (非切離群) の組織学的所見

骨折後2週：錨着仮骨はすでに形成されており骨折線に近い部分では、粗い骨梁をもつ叢状海綿様骨の像を呈し、骨折部を離れるに従って、それらは板層状仮

骨へと変化していた。橋状部、結合部、閉鎖部は大部分細胞密度の高い線維性組織及び軟骨様組織で占められていた (図11)。

骨折後3週：錨着仮骨は、2週目に比較して、骨折

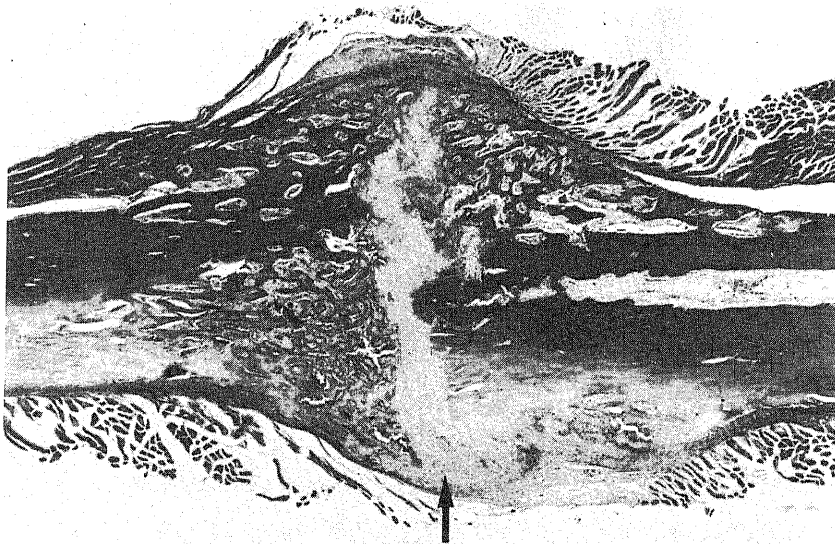


Fig. 11. Histological findings of Group D, two weeks after operation. Anchoring bony callus is seen. Cartilaginous tissue is seen between the anchoring bony callus (arrow). H-E stain.  $\times 4$ .

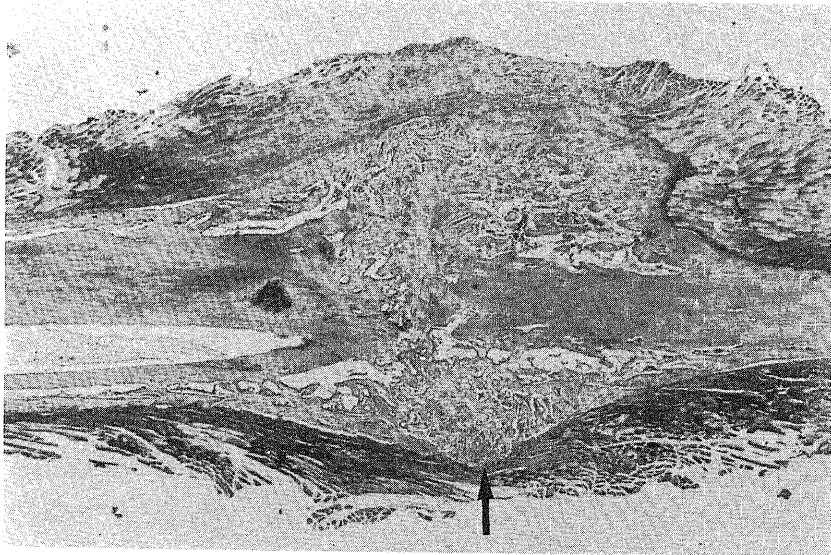


Fig. 12. Histological findings of Group D, three weeks after operation. Much anchoring body callus and bridging bony callus are seen (arrow). Cartilaginous tissue is still remained. H-E stain.  $\times 4$ .



部付近まで板層状仮骨化されていた。橋状部は叢状海綿様仮骨が形成されるようになり、それらによる骨折端の連絡が見られるようになってくる。結合部、閉鎖部は軟骨様組織と叢状海綿様仮骨が混在してくる (図

12)。

骨折後4週：橋状部全体が叢状海綿様仮骨によって占められるようになり、閉鎖部では一部軟骨様組織の残存をみるも大部分は、叢状海綿様仮骨による閉鎖仮

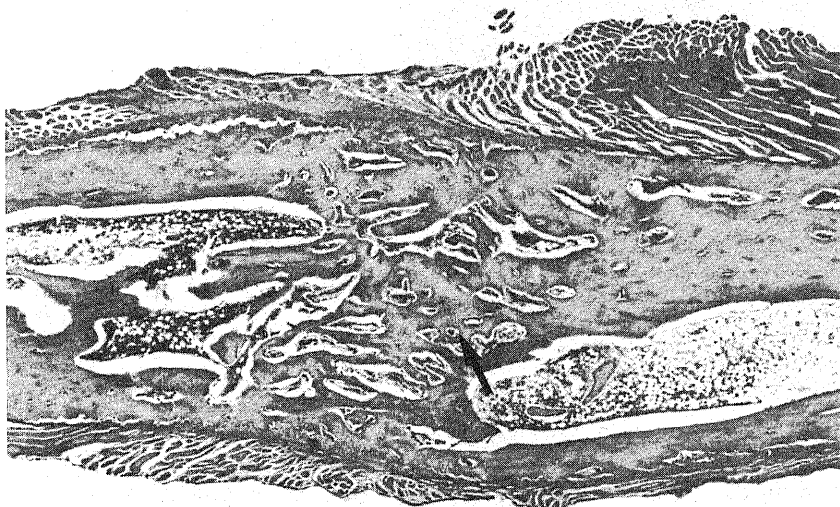


Fig.13. Histological findings of Group D, four weeks after operation. Bridging bony callus is united at the fracture regions. Sealing and uniting bony calluses are seen (arrow). H-E stain.  $\times 4$ .

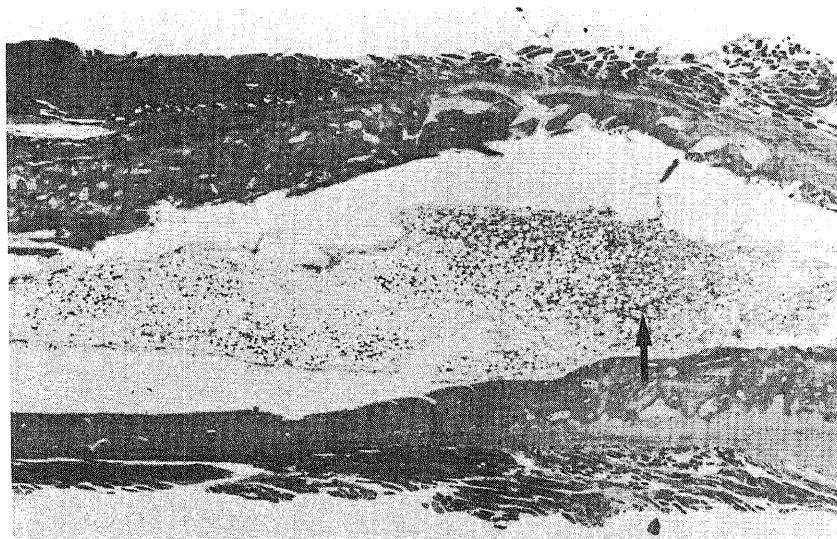


Fig.14. Histological findings of Group D, six weeks after operation. Bridging, uniting and sealing bony calluses are united. The remodeling is more extensive and internal callus is almost disappeared (arrow). H-E stain.  $\times 4$ .

骨形成による骨折端の連絡を認めるようになってくる。この時期に一部結合仮骨も出現してくる (図13)。

骨折後5～6週：錨着仮骨、橋状仮骨は更にすすみ板層状化し、海綿様仮骨は殆どなくなり完全に連絡していた。閉鎖部では海綿様仮骨が形成され、閉鎖仮骨による連絡がみとめられ、結合部では、結合仮骨が形成され連絡した。つまりこの時点で、内、中間、外仮骨による連絡が完成した (図14)。

## 2) A群 (0時間血流途絶群) の組織学的所見

A群は、組織学的にD群すなわちコントロール群とほぼ同様の仮骨形成の経過をたどり、内、中間、外仮骨による骨折端の連絡が5～6週で認められた。A群の骨癒合は、経時的に、また組織学的に、D群すなわちコントロール群と差は認められなかった。

## 3) B群 (6時間血流途絶群) の組織学的所見

骨折後2週：錨着仮骨は一部形成されており骨折線に近い部位では叢状海綿様仮骨がみられ、橋状部、結合部、閉鎖部では線維性組織及び軟骨様組織の存在をみる (図15)。

骨折後3週：錨着仮骨は更に骨折部より遠位部では板層状仮骨化へと進み、骨折線に近い部位では叢状海綿様仮骨の像を呈している。橋状部、結合部、閉鎖部においては線維性組織で占められるようになってくるが、一部軟骨様組織も存在してくる (図16)。

骨折後4週：錨着仮骨は更に骨折部付近にまで板層

状仮骨化されるようになってくる。橋状部では叢状海綿様仮骨が形成され、それらによる骨折端の連絡がみられるようになってくる。結合部、閉鎖部は軟骨様組織と叢状海綿様仮骨がほぼ等量で混在してくるようになる (図17)。

骨折後5週：錨着仮骨は更に板層状仮骨へと進み結合部、閉鎖部では、4週目では軟骨様組織と叢状海綿様仮骨がほぼ等量で混在したが、5週目においては一部軟骨様組織の存在をみるが、ほとんど叢状海綿様仮骨へと変化し閉鎖仮骨形成による骨折端の連絡を認めるようになってくる (図18)。

骨折後6～7週：錨着仮骨、橋状仮骨は更にすすみ板層状化し、海綿様仮骨は殆どなくなり完全に連絡していた。閉鎖部では海綿様仮骨が形成され、閉鎖仮骨による連絡がみとめられ、結合部では、結合仮骨が形成され連絡した。つまりこの時点で、内、中間、外仮骨による連絡が完成した (図19)。

## 4) C群 (12時間血流途絶群) の組織学的所見

C群は、組織学的にB群とほぼ同様の仮骨形成の経過をたどり、内、中間、外仮骨による骨折端の連絡が6～7週で認められた。C群の骨癒合は、経時的に、又組織学的に、B群と差は認められなかった。以上より組織学的には骨癒合状態には特別な所見は見いだせなかったが、B、C群はA、D群より骨癒合過程の進行状態において全体的に1～2週有意に遷延した。

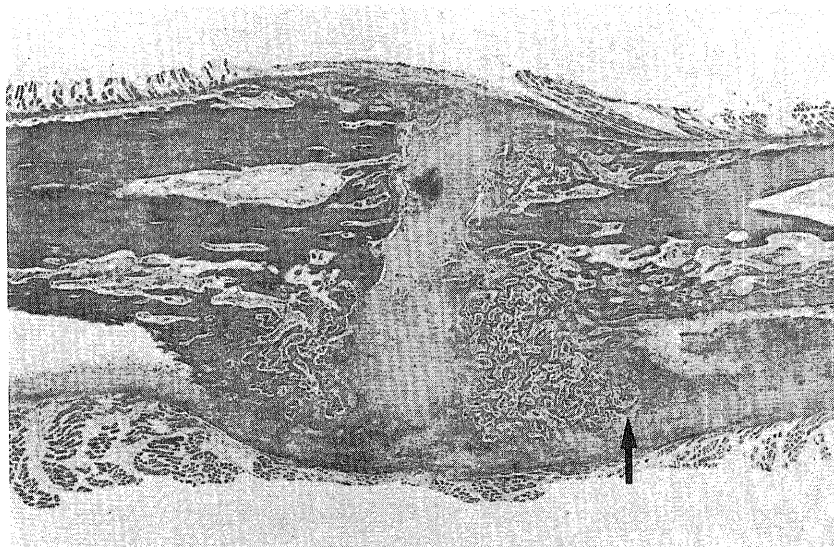


Fig. 15. Histological findings of Group B, two weeks after operation. Anchoring bony callus is seen (arrow) but is less than A and D. H-E stain.  $\times 4$ .

### 3. オートラジオグラフィーによる所見

投与された  $H^3$ -Thymidine は、腓骨々幹部の骨膜にある細胞に取り込みが見られ、投与1時間後のその labeled cell を測定し、LCR を求め検討した。

0時間血流途絶後投与された群つまりA群においては LCR は平均1.53%であり2時間血流途絶後では1.38%、4時間血流途絶後では0.98%、6時間血流途絶後つまりB群では0.44%、12時間血流途絶後つまり

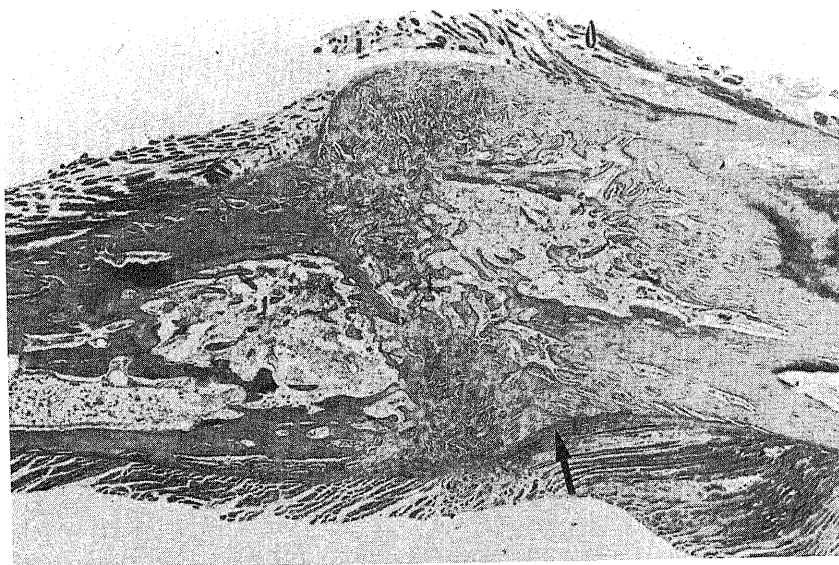


Fig. 16. Histological findings of Group B, three weeks after operation. Much cartilaginous tissues are seen (arrow) between the anchoring bony callus. H-E stain.  $\times 4$ .

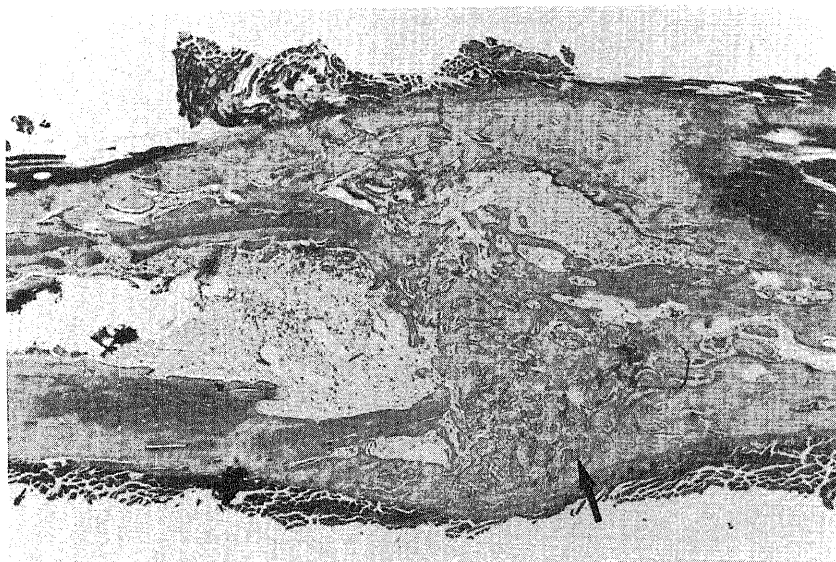


Fig. 17. Histological findings of Group B, four weeks after operation. Much anchoring bony callus and bridging bony callus are produced (arrow). Cartilaginous tissue is still remained. H-E stain.  $\times 4$ .

C群では0.39%であり血流途絶時間が長くなるにつれ、徐々に LCR は減少を示し、特に6時間、12時間血流途絶群での LCR の減少率は著明であった(図20, 21).

## 考 察

循環障害が骨折治療に影響を及ぼす重要な因子である事は古くから知られていた。切断肢(指)再接着に

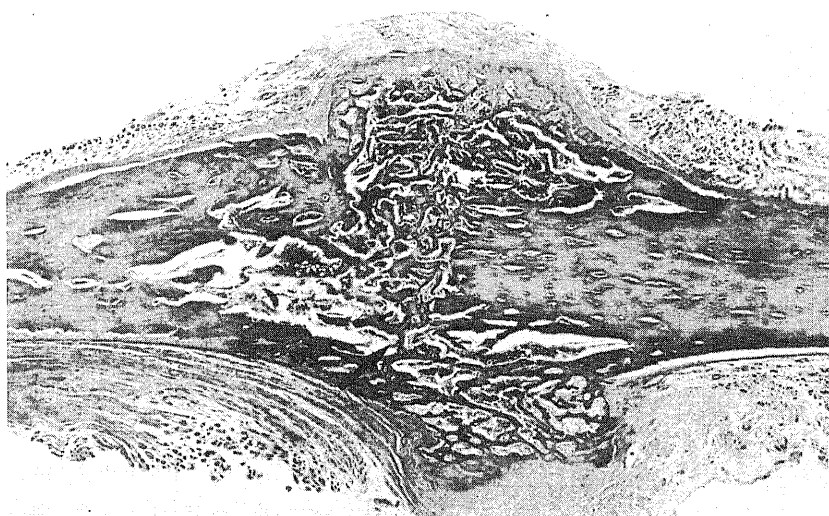


Fig. 18. Histological findings of Group B, five weeks after operation. Bridging bony callus is united at the fracture regions. Sealing and uniting bony calluses are seen (arrow). H-E stain.  $\times 4$ .

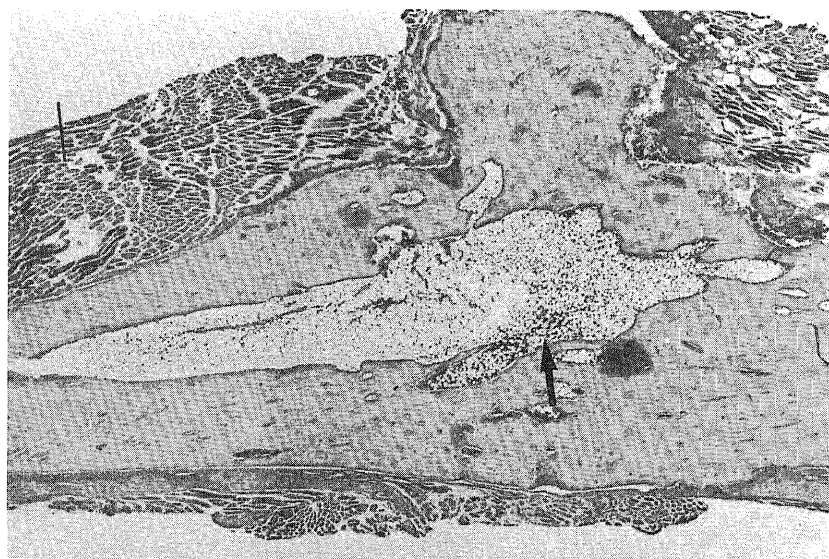


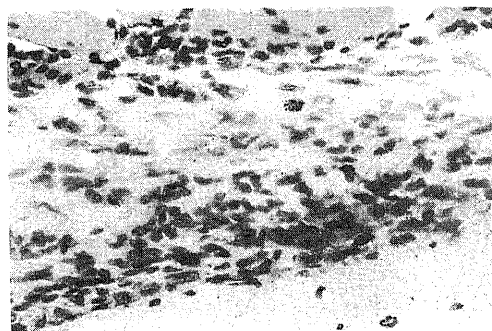
Fig. 19. Histological findings of Group B, seven weeks after operation. Bridging, uniting and sealing bony calluses are united. The remodeling is more extensive and internal callus is almost desaturated (arrow). H-E stain.  $\times 4$ .

は、切断されてから血行再開までの時間（血流途絶時間）は重要で、通常ゴールデンアワー（6時間）以内とされている。その理由は、切断末梢肢（指）の組織が非可逆性の変化をおこすまでの時間が問題であり、組織によってその時間に差があり、最も早い筋組織で約6時間と考えられるからである。骨はその変化を受ける時間は更に長いと考えられている。臨床例で血行再開が6時間以上でも切断肢（指）再接着に成功した場合も多いが、機能の回復には問題がある。本研究では再接着した骨の接合部（骨折）の治癒状態が血流途絶時間により、どのように影響されるかを検討した。島<sup>6)</sup>、米澤<sup>7a)</sup>は臨床例（再接着指、肢）の骨癒合の観察から再接着までに要した時間と骨癒合完成までの時間には関係があり血流途絶時間の延長に伴い骨癒合が遅延する傾向があると報告している。

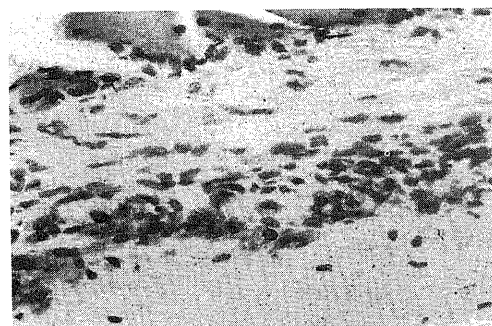
今回、家兎を用いて大腿骨、大腿動静脈及び坐骨神経のみを残し、骨膜も含めて他組織を完全に切離し、大腿動静脈をクリッピングする事により血流途絶状態を作製し、クリッピング時間すなわち血流途絶時間と腓骨々折の骨癒合との関係を検討した。

切断肢（指）では、骨折部位と血管断裂部位は同レベルにあるのが普通である。切断肢の骨癒合に影響を及ぼす因子として、血行再開までの血流途絶時間、血行再開後の血流量、周囲軟部組織の損傷程度（受傷機転）、骨折型、骨接合方法と接合状態などが考えられる。血流途絶実験モデルについては、実験的に肢（指）の血流途絶状態を作る方法として、実際に切断肢（指）を作製し一定時間後再接着を行う方法が最も理想的であるが、骨接合法による固定状態の違い及び血管縫合の技術の差により一定の成績が得られないと考

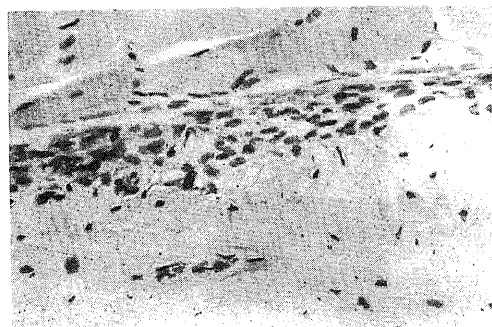
え、今回は血流途絶時間と骨癒合の関係を検討するのが目的であり、それ以外の因子を一定にするため、血流途絶部位を大腿中央部とし、骨折部位は腓骨とした。家兎の腓骨は解剖学的に脛骨が副木の働きをし、転位を来さないため骨接合の必要もなく、したがって接合状態も問題にする必要がなかった。途絶時間に関しては、島<sup>6)</sup>は切断指例で5時間以上で、米澤<sup>7a)</sup>は前腕切断例で7時間以上で骨癒合が遅延するとしており、臨床例では12時間以上の途絶時間をおいての再接



Group A



Group B



Group C

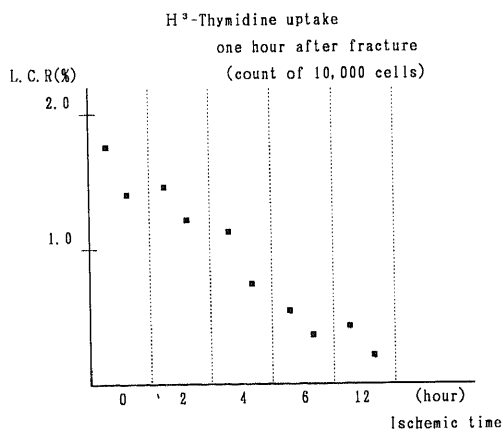


Fig. 20. H<sup>3</sup>-Thymidine uptake in fibula one hour after fracture. (I. C. R.=Labeled Cell Rate).

Fig. 21. Uptake of H<sup>3</sup>-thymidine into periosteal cells. The number of H<sup>3</sup>-thymidine positive cells in group A is than that in group B and C. H-E stain.  $\times 250$ .



着はほとんど考えられず、又予備実験の段階で18時間のクリッピングによる血流途絶状態の作製を試みたが、血流再開後すぐに血栓による閉塞をおこしたり、筋肉や皮膚の再接合部に感染をおこし12時間以上の血流途絶状態を作製する事は不可能であり、著者は6時間、12時間の血流途絶時間で検討した。

血流測定法には、電磁血流測定法、超音波血流測定法、静脈閉塞性プレチスモグラフィ、水素クリアランス法、放射線クリアランス法、インピーダンスプレチスモグラフィなど様々な測定法があるが、経時的に連続測定が出来、微小血流が測定出来るということから、松本<sup>9)</sup>の測定方法に従って、家兎の下腿測定用に改良されたインピーダンスプレチスモグラフィを用いた。同時に測定された患側の健側の測定値に対する比をもって患側の血流状態の指標とした。

血流途絶時間と血流再開後の血流量の関係をみた報告はこれまでに全くなく本実験が最初である。

本実験において、図4に示すごとく、切離のみでクリッピングしないつまりA群の術直後の患側/健側血流比は $79.4 \pm 11.8\%$ であり、1週毎に6週間観察したが、観察期間中約80%台を維持した。

B、C群共に大腿動静脈をクリッピングすると血流は測定出来ず、血流途絶状態と判断され、クリップ除去つまり血流再開まで続いた。その後クリップを除去し血行を再開した直後に一過性の血流比の増大を認めたが、これは血流途絶解除により患側への steal 現象が起こり、健側の測定値が一過性に低下するためと考えられた。その後の経時的血流測定の結果では、B群とC群の血流比は60%台と両者ほぼ等しく、6週間の血流比の推移もほぼ同じで、A群と同様4週目より極軽度の血流比の増加傾向をみるが、ほぼ一定した血流比を示し有意な増加はみられなかった。すなわち血流途絶を行わなかったA群に比べ、6～12時間の血流途絶の結果、約20%の血流低下が生ずることが分かった。これは May<sup>10)</sup>も述べているごとく血流途絶状態が続くと筋肉組織や血管組織に阻血性変化が起こり、血流が再開されても浮腫が強く、そのために細動脈の再循環不全現象が起こり良好な血液循環が得られない結果と思われた。実際に実験的に、Harman<sup>17)</sup>はイエウスギやダイコクネズミを使用し、後脚主血管を結紮する事により筋肉の阻血変化を調べた結果、阻血4時間めより組織学的に異常を認め、Eiken<sup>18)</sup>は犬を使用した再接着実験で同じように阻血4時間め筋肉の組織学的変化を認めるとし、その限界時間は6時間としている。以上のように血流途絶状態が続くと筋肉は約6時間で阻血性変化に陥る事は実験的に認められ

ており本実験においてもB、C群の骨折部採取時の下腿筋肉の壊死、線維化、瘢痕組織化を起こしていた。このように血流途絶が6時間を越えると切断された筋組織が非可逆的な阻血性拘縮に陥り側副血行を促進しようとする血管新生が妨げられる為二次的な結果として血流量の低下をきたし、上記に述べたように60%台の血流しか得られないと思われた。

阻血状態での骨癒合を検討した報告としては、Trueta<sup>1)</sup>、Cavadias<sup>2)</sup>、Dax<sup>3)</sup>、Ilex<sup>ら</sup><sup>4)</sup>の報告があり、阻血状態が骨癒合に影響する事はよく知られている。血流量と骨癒合の関係を検討したのは松本<sup>9)</sup>が初めてである。松本は大腿動脈のみの結紮と、大腿動脈及び総腸骨動脈の両者を結紮した2段階の阻血状態を作製し、血流量をインピーダンスプレチスモグラフィにて測定し、腓骨骨折の骨癒合と血流量の関係を検討した結果、仮骨形成の盛んな骨折後2～5週の時期に、骨折部周辺の血流が、正常血流の40～50%にしか回復しない場合、X線学的に骨膜性の外仮骨形成は起こらず、組織学的にも骨折部は瘢痕組織となり骨癒合は起こらずいわゆる偽関節となるが正常血流の70%以上に維持されるとほぼ正常な骨癒合が起これと報告している。

本実験でA群(0時間血流途絶群)では、骨折後1～6週の時期に血流量が健側の約80%とわずかに低下するが、X線学的にも、組織学的にも仮骨形成には影響を受けず、骨癒合はD群(骨折のみ)すなわち正常血流時と変わりなく完成した。B群(6時間血流途絶群)、C群(12時間血流途絶群)では、骨折後1～6週の時期に血流量が健側の60%台と低下し、A、D群に比較して、X線学的には骨膜性の外仮骨形成が少なく、組織学的には骨癒合過程の進行状態に差があるのみで骨癒合は得られるものの、骨癒合完成までの期間が、A群、D群より1～2週遅延した。しかし、B群とC群の間には有意差はなかった。

B群、C群の仮骨形成が盛んな時期の血流量が松本<sup>9)</sup>の報告の骨癒合の起こらない血流量(正常の50%以下)と正常な骨癒合がおこる血流量(70%以上)の間にあり、骨癒合の遅延の一因としてこの血流量の低下が考えられた。生体内で段階的に血流量を低下させ、骨癒合との関係を詳細に検討する事は非常に困難であり、松本の報告と併せて考えると本実験の結果は興味深い。実際にどの程度の時間血流が途絶すると骨癒合に影響を及ぼすかという事に関して、島<sup>6)</sup>、米澤<sup>7)</sup>は、臨床において、切断指、切断肢の再接着例の血流途絶時間と骨癒合の関係を検討し、ある一定時間血流が途絶すると骨癒合が遅延することを報告している。

臨床での切断肢(指)には再接着後の血流量、骨接合法、骨接合状態、周囲組織の損傷程度などの多くの骨癒合に影響を及ぼす因子が含まれている。どの程度の時間血流を途絶すればどの程度骨癒合に影響するかは未解決の状態であり、血流途絶時間と骨癒合の関係を検討したのは本実験が初めてである。本実験では、6時間、12時間血流途絶群が0時間血流途絶群に比して、明らかに骨癒合に影響する事が証明された。途絶時間が6~12時間で、骨癒合の遷延する理由に関して、前項でも述べているような仮骨形成が盛んな時期の骨折治癒機転を停止させない程度の血流量の低下が考えられるが、その他に骨癒合に関する細胞の viability が血流途絶によって影響を受けることも想像される。Berggren ら<sup>19)</sup>は実験的に遊離血管柄付骨移植をおこない移植骨を微小血管吻合するまで+5°Cの Collins-Terasaki 溶液に保存し、保存期間(90分から48時間まで)すなわち阻血時間と移植骨の骨細胞、骨芽細胞の生存との関係を triple fluorochrome bone labeling で検討し、25時間の阻血時間まで完全に骨細胞、骨芽細胞は生存していたと報告している。一方 Rösingh ら<sup>20)</sup>は家兎の大腿骨の Lig. teres を切離、大腿骨頸部を結紮することにより大腿骨々頭の阻血状態を作製した後経時的に骨頭を摘出し、フォイルゲン染色で、骨細胞の核の DNA 含量を測定することにより、阻血時間と骨細胞の細胞活性との関係を検討し、6時間阻血で骨細胞は活性がなくなるとしている。細胞活性学的にみても骨組織は筋肉に比して長時間の阻血に耐え得るものと考えられた。

Kernek ら<sup>21)</sup>は骨膜が外仮骨の主なる細胞の供給源であると述べている。著者は骨癒合に関与する細胞の viability を検討するため、血流再開後極初期の腓骨々幹部の骨膜細胞の  $H^3$ -thymidine の取り込みと血流途絶時間の関係を調べた結果、血流途絶時間が長くなるにつれて LCR は減少し、特に6時間以降にその減少率は著明であった。これより骨癒合に関与する細胞の viability が低下する事が考えられ、この viability の低下が骨癒合遷延に何らかの影響を与えるかもしれないと思われた。

切断肢(指)において血行再開は受傷後より出来るだけ早いほうが良いというのは異論のないところである。一般的に切断肢(指)の阻血の限界は常温で May<sup>16)</sup>, Morrison<sup>22)</sup>, 村上ら<sup>23)</sup>が述べているように6時間前後と思われ、阻血状態が6時間を越えると血流が再開されてもまず筋組織が不可逆的な変化として壊死、線維化、瘢痕組織化されいわゆる Volkman 拘縮となる。しかし骨組織はそれより更に長いと考えら

れ、本実験の結果より骨癒合のみに限ると、血流途絶時間は6時間を越えてそれが12時間にまで及んでも血流再開後の血流が正常の60%以上を維持すれば、遷延はするが骨癒合は得られる。しかし実際に臨床上においては、切断肢(指)の機能を回復することが目的であるから、出来るだけ早期に手術するように努力すべきである。血流途絶時間が長くなると筋組織の少ない指(趾)の切断いわゆる minor amputation の場合にはあまり影響を及ぼさないが、四肢の切断いわゆる major amputation の場合にはたとえ骨癒合は得られても機能的な予後は期待出来ないものとなる。それ故各組織が機能を回復するため特に筋肉が不可逆的な変化を受けない時間が重要であり、その機能を考えると6時間以内に再接着するのが望ましい。

## 結 論

切断肢(指)再接着の成績の検討より、受傷より血行再開までの時間が、骨癒合の時期に影響することが臨床的に分かったので、血流途絶時間と骨癒合の関係を実験的に検討した。家兎を用いて、その大腿中央部において大腿骨、大腿動静脈及び坐骨神経を残し他組織を骨膜も含めて完全に切離し、大腿動静脈をクリッピングする事により、クリッピング時間つまり血流途絶時間が0時間、6時間、12時間の3段階の血流途絶状態を作製し、それぞれに腓骨を骨折させた。又腓骨々折のみの非切離群と比較検討した。血流再開後の血流量に関してはインピーダンスプレシスモグラフィを用い、骨癒合に関してはX線学的及び組織学的にその経過を観察し、以下の結果を得た。

1. 0時間の血流途絶状態では健側と比較しても80%前後の血流を保ち、6時間及び12時間の血流途絶状態が続くと健側の血流の約60%前後に低下し、6週間の血流測定期間中血流比はほぼ一定していた。すなわち血流途絶を行わなかった場合に比べ、血流途絶を行った場合は約20%の血流低下がおこる。

2. 0時間の血流途絶状態すなわち血流量80%台では、腓骨々折は非切離群と同様の骨癒合が得られたが、6ないし12時間の血流途絶状態即ち血流量60%台が続くと1~2週の骨癒合の遷延が認められた。

3. 血流途絶状態が6時間を越えると骨癒合は遷延するが、その原因として仮骨形成の盛んな2~5週の時期の骨折治癒機転を停止させない程度の血流量の低下が主因と考えられた。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師野村

進教授に謹んで感謝の意を表します。また本研究の遂行にあたり、直接御指導下さいました金沢大学整形外科非常勤講師兼石川県立中央病院整形外科部長島嶽博士、御協力下さいました安田俊久文部技官に深謝いたします。

なお本論文の要旨は、第60回中部日本整形外科災害外科学会において発表した。

# 文 献

- 1) **Trueta, J.:** Blood supply and the rate of healing of tibial fractures. *Clin. Orthop.*, **105**, 11-26 (1974).
- 2) **Cavadias, A. X. & Trueta, J.:** An experimental study of the vascular contribution to the callus of fracture. *Surg. Gyn. Obst.*, **119**, 731-747 (1965).
- 3) **Dax, S.:** Ueber die Beziehungen der Zirkulationsstörungen zur Heilung von Frakturen der langen Rohrenknochen mit besonderer Berücksichtigung der Arteria nutritia. *Brun's Beitr. Z. Klin. Chir.*, **104**, 313-342 (1917).
- 4) **Lexer, E. W.:** Über der zeitlichen Ablauf der Heilvorgänge am Knochenbruch. *Brun's Beitr. Z. Klin. Chir.*, **159**, 372-381 (1943).
- 5) **松本忠美:** 阻血下における血流量と骨癒合の関係. 十全医会誌, **92**, 107-121 (1983).
- 6) **島 嶽, 上野達弥, 山内茂樹, 松本忠美, 国下正英, 野村 進, 吉村光生:** 再接着指における骨癒合について. 整形・災害外科, **25**, 303-309 (1982).
- 7) **米澤幸平, 山内茂樹, 島村浩二, 本田敬宜, 橋本二美男, 宇賀治行雄, 増山 茂, 金粕浩一, 野村進, 吉村光生:** 切断肢再接着後の前腕骨骨折の骨癒合. 整形・災害外科, **28**, 515-519 (1985).
- 8) **米澤幸平, 山内茂樹, 梅田真一郎, 島村浩二, 沢田米造, 本田敬宜, 橋本二美男, 宇賀治行雄, 増山茂, 野村 進, 吉村光生:** 上肢 major amputation 再接着後の機能的予後と骨癒合について. 形成外科, **29**, 95-103 (1986).
- 9) **O'Donnel, J. A. & Hobson, R. W.:** Comparison of electrical impedance and mechanical plethysmography. *J. Surg. Research*, **25**, 459-464 (1978).
- 10) **山越憲一, 伊藤寛志, 山田明夫, 三浦 茂:** 電気的インピーダンス法による心拍出量測定に関する研究. 医用電子と生体工学, **11**, 258-267 (1973).
- 11) **Kubicek, W. G., Patterson, R. P. & Witsoe, D. A.:** Impedance cardiography as a noninvasive method of monitoring cardiac function and other parameters of the cardiovascular system. *A nn. N. Y. Acad. Sci.*, **170**, 724-732 (1970).
- 12) **Nyboer, J.:** Electrical impedance plethysmography (A physical and physiologic approach to peripheral vascular study). *Circulation*, **2**, 459-471 (1960).
- 13) **沖野 遙, 堀原 一, 本田西男:** 血流測定 (沖野編), 第一版, 1~9 頁, 医学書院, 東京, 1974.
- 14) **渡辺 良, 岡 正典, 笠原吉孝, 中根康雄, 宮田慶男:** AOI による圧迫骨接合術の問題点. 臨整外, **7**, 101-113 (1972).
- 15) **Weinmann, J. P. & Sicher, S. H.:** Bone and Bone and Bones, 314-332, Mosby, St., Louis, 1955.
- 16) **May, J. W., Chait, L., O'Brien, B. M. & Hurley, J. V.:** The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast. Reconstr. surg.*, **61**, 256-266 (1978).
- 17) **Harman, J. W.:** A histological study of skeletal muscle in acute ischemia. *Am. J. Pathol.*, **23**, 551-565 (1947).
- 18) **Eiken, O., Nabseth, D. C., Mayer, R. F. & Deterling, R. A.:** Limb replantation, 1. Technique and immediate results. 2. Pathophysiological effects. 3. Long-term evaluation. *Arch. Surg.*, **88**, 48-77 (1964).
- 19) **Berggren, A. & Weiland, A. J. & Dorfman, H.:** The effect of prolonged ischemia time on osteocyte and osteoblast survival in composite bone grafts revascularized by microvascular anastomoses. *Plast. Reconstr. Surg.*, **69**, 290-298 (1982).
- 20) **Rösingh, G. E. & James, J.:** Early phases of avascular necrosis of the femoral head in rabbits. *J. Bone Joint Surg.*, **51-B**, 165-174 (1969).
- 21) **Kernek, C. B. & Wray, J. B.:** Cellular proliferation in the formation of fracture callus in the rat tibia. *Clin. Orthop.*, **91**, 197-209 (1973).
- 22) **Morrison, W. A., O'Brien B. M. & McLeod, A. M.:** Major limb replantation. *Orthop. Clin. North Am.*, **8**, 343-348 (1977).
- 23) **村上恒二, 生田義和:** 切断上腕・前腕再接着の適応と予後. 整形外科 Mook, **48**, 10-21 (1987).



**The Relationship Between Fracture Healing and Duration of Ischemia**  
Masahide Kunishita, Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med. Soc., 97, 1106—1122 (1988)

**Key words :** fracture healing, blood flow, duration of ischemia

### **Abstract**

The relationship between fracture healing and the duration of ischemia was studied by clipping the femoral artery and vein of the rabbit. Tissues except the femur, the femoral artery and vein, and the sciatic nerve were cut at the middle of the thigh of each rabbit, and ischemic conditions were prepared by clipping the femoral artery and vein in three different conditions: no clipping (0 hour ischemia, group A), six hours after clipping (6 hours ischemia, group B), and 12 hours after clipping (12 hours ischemia, group C). Immediately after clipping, the ipsilateral fibula was fractured, and the contralateral fibula was also fractured for control. The fracture healing was studied radiologically and histologically. The blood flow of the distal side of the clipping was measured by impedance plethysmography, and the activity of the periosteal cells was examined by  $H^3$ -thymidine autoradiography. In group A, the blood flow of the ischemic side retained 80% of the normal side from the first to the sixth week. Radiologically and histologically, no difference of the fracture healing was noted between group A and the control. In groups B and C, however, the blood flow was retained at 60%. In groups B and C, the fracture healing was accomplished, but was one to two weeks longer delayed than group A. There was no difference between group B and group C. In the autoradiography, at the early stage the  $H^3$ -thymidine labeled cell rate of the periosteum of the fibula of groups B and C was significantly lower than that of group A. In conclusion, when the duration of ischemia is longer than 6 hours, the fracture healing is delayed. The delay is thought to be due to the diminution of the viability of the callus-forming cells at the early stage and also the diminution of the blood flow.